

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum
28. November 2002 (28.11.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer
WO 02/095371 A1

(51) Internationale Patentklassifikation⁷: G01N 21/01

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/AT02/00157

(22) Internationales Anmeldedatum:
23. Mai 2002 (23.05.2002)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:
A 818/2001 23. Mai 2001 (23.05.2001) AT

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme
von US): ANTHOS LABTEC INSTRUMENTS GMBH
[AT/AT]; Lagerhausstrasse 507, A-5071 Wals (AT).

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): LANDLINGER,
Richard [AT/AT]; Am Sonnenlehen 394, A-5084 Gross-
gmain (AT).

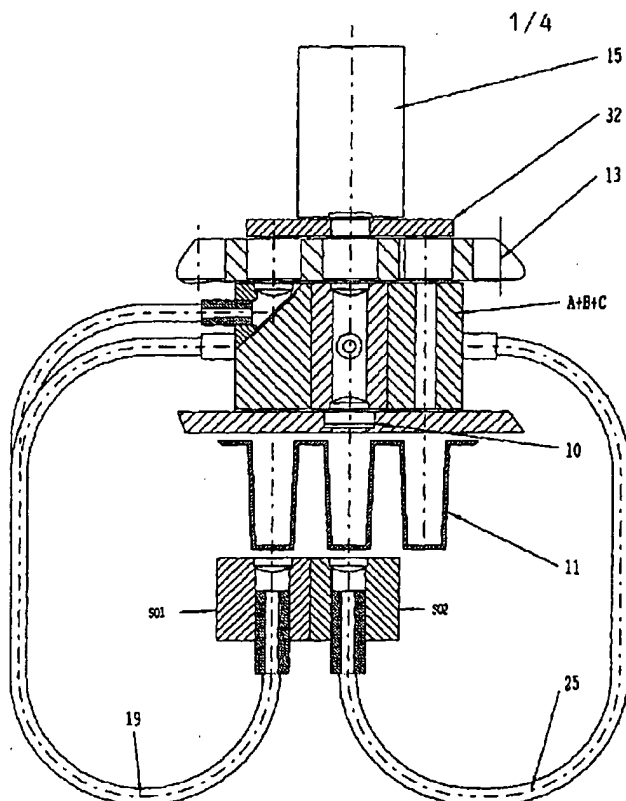
(74) Anwälte: HOFINGER, Engelbert usw.; Wilhelm-Greil-
strasse 16, A-6020 Innsbruck (AT).

(81) Bestimmungsstaaten (national): AE, AG, AL, AM, AT,
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR,
CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, ES, FI, GB, GD, GE,
GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ,
LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN,
MW, MX, MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI,
SK, SL, TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU,
ZA, ZW.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: FLUOROMETER

(54) Bezeichnung: FLUOROMETER



(57) Abstract: A measuring station fluorometer having at least one light source (1), comprising a receiving element for at least one same container, especially for receiving microtitration plates and PCR tubes, a measuring head and an evaluation station having a detector (15) for evaluating the emission signals emitted by the sample (11). The measuring head is formed by three modularly assembled optical blocks (A, B, C). Different measuring methods can be carried out with each optical block (A, B, C), all optical blocks (A, B, C) serving the common detector (15).

(57) Zusammenfassung: Ein Fluorometer mit mindestens einer Lichtquelle (1) einer Meßstation mit einer Aufnahme für mindestens einen Probehälter, insbesondere für die Aufnahme von Mikroplatten und Polymerasekettenreaktionsröhrchen (PCR-Tubes), einen Meßkopf sowie einer Auswertstation mit einem Detektor (15) für die Auswertung der von einer Probe (11) abgegebenen Emissionssignale. Der Meßkopf wird von drei modular zusammengesetzten Optikblöcken (A, B, C) gebildet. Mit jedem Optikblock (A, B, C) ist eine andere Meßmethode durchführbar. Alle Optikblöcke (A, B, C) bedienen den gemeinsamen Detektor (15).

WO 02/095371 A1

BEST AVAILABLE COPY



(84) **Bestimmungsstaaten (regional):** ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

— vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist; Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

Fluorometer

Die Erfindung bezieht sich auf ein Fluorometer mit mindestens einer Lichtquelle einer Meßstation mit einer Aufnahme für mindestens einen Probenbehälter, insbesondere für die Aufnahme von Mikroplatten und Polymerasekettenreaktionsröhrchen (PCR-Tubes), einen Meßkopf sowie einer Auswertestation mit einem Detektor, vorzugsweise einem Photomultiplikator (PMT) für die Auswertung der von einer Probe abgegebenen Emmisionssignale.

Aus der US 6 084 680 ist ein kompaktes Fluorometermeßkopfmodul bekannt, welches nur für eine Meßmethode (ohne Umbau) verwendbar ist. Es können mit diesem Gerät keine zeitverzögerte Fluorometrie, Photometrie, Luminometrie und Polarisationsfluorometrie gemessen werden.

Die EP 0 886 136 A1 zeigt ein Instrument für Küvetten und mißt Durchlichtfluorometrie. Dabei ist das Erblinden des Detektors bei zu starker Blitzenergie gegeben, da die photoempfindliche Schichte des Detektors geschädigt wird. Deshalb werden 2 Blitzlampen mit unterschiedlicher Energie verwendet.

Die WO 01/35079 A1 beschreibt ein Fluorometer mit Thermozyylinder, d.h. die Proben werden sehr stark und schnell erhitzt und abgekühlt. Die Lichtquelle ist eine Leuchtdiode mit sehr begrenztem optischem Spektrum und Energie. Dieses Gerät ist nur für einen Anwendungsfall konzipiert.

Aufgabe der Erfindung ist es, ein Fluorometer der eingangs erwähnten Art dahingehend zu verbessern, daß es leicht an verschiedene Anforderungen angepaßt werden kann.

Die erfindungsgemäße Aufgabe wird dadurch gelöst, daß der Meßkopf von mindestens zwei, vorzugsweise drei modular zusammengesetzten Optikblöcken gebildet wird, wobei mit jedem Optikblock eine andere Meßmethode durchführbar ist und alle Optikblöcke den gemeinsamen Detektor bedienen.

Durch die modulare Zusammenstellung können Einrichtungen für verschiedene Meßmethoden leicht weggelassen oder hinzugefügt werden. Für die Grundeinheit benötigt

2

man lediglich die Teile für die von oben gemessene Fluorometrie (Top-Reading Fluorometrie). Alle anderen Teile können je nach Bedarf modular hinzugefügt werden.

5 Nachfolgend wird ein Ausführungsbeispiel der Erfindung anhand der beiliegenden Zeichnungen beschrieben.

Die Fig. 1 zeigt eine schematisch gehaltene Frontansicht des erfindungsgemäßen Fluorometers,
die Fig. 2 zeigt eine Draufsicht auf das erfindungsgemäße Fluorometer,
10 die Fig. 3 das Schema für die Fluorometrie von oben und für die Polarisationsfluorometrie,
die Fig. 4 zeigt das Schema für die Fluorometrie von unten,
die Fig. 5 zeigt das Schema für die verzögerte Messung (Time-resolved Fluorometrie)
die Fig. 6 zeigt das Schema für die Photometrie,
15 die Fig. 7 zeigt schematisch einen Luminometer, und
die Fig. 8 zeigt schematisch ein Polarisationsfilterrad.

Die Grundausrüstung für alle Meßmethoden besteht aus dem Detektor 15 in der Form eines Photomultiplikators PMT und dem Optikblock (B) sowie zwei Filterschiebern 6,
20 13 und einer Lichtquelle 1.

Der Optikblock B wird für die von oben gemessene Fluorometrie, das heißt für die Top-Reading Fluorometrie und für die zeitverzögerte Fluorometrie (time resolved Fluorometrie) verwendet.

25

Die Lichtquelle 1 (Fig. 3, 4) besteht aus einer Halogenlampe mit sechs Volt und 20 Watt ohne UV-Stop, zwei Linsen 2, 3 aus nicht fluoreszierendem Quarzglas und einem Wärmeschutzglas 4 zur Unterdrückung der parasitären Infrarotstrahlung in einem in sich geschlossenen Lampenblock. Diese Lichtquelle 1 wird für die Fluoreszenz-
30 messung von oben und von unten und für die Photometrie verwendet. Die Lichtquelle 1 ist mit der Lichtleiteraufnahme 33 für die Lichtquelle 29 (Fig. 5), die vorzugsweise von einer Xenon-Blitzlampe gebildet wird, starr verbunden und besitzt einen motorischen Antrieb. Die Lichtquelle 1 und die Lichtleiteraufnahme 33 können somit automatisch
g wechselt werden.

35

3

Der Optikblock B (Fig. 5) weist einen Trägerblock aus schwarz eloxiertem Aluminium auf, in dem eine Blende 7 (Fig. 3) zur Randstrahlenbegrenzung angeordnet ist, sowie einen Breitbandstrahlenteiler 8, der in einem Winkel von 45° zu den Lichtquellen 1, 33 bzw. zur Probe 11 angeordnet ist. Durch diese Anordnung des Breitbandstrahlenteilers 8 wird der Anregedraht zur Probe abgelenkt und das zurückkommende Fluoreszenzlicht von der Probe 11 zum Detektor 15 weitergeleitet. Weiters sind eine Ausgangslinse 9 aus nicht fluoreszierendem Quarzglas (SQ 1), die den Strahl zu und von der Probe 11 fokussiert, eine Photodiode 16 zur Synchronisierung eines von einer Blitzlampe der Lichtquelle 29 abgegebenen Blitzes und eventuell zur Halogenlampenüberwachung sowie eine Linse 12 (SQ1), die den Rückstrahl von der Probe 11 durch einen Emissions-Filter 13, der von einem Filterschieber 13 gebildet wird, zum Detektor 15 leitet, vorgesehen.

Im Bereich der Photodiode 16 muß besonders auf Reflexionsfreiheit geachtet werden. Die Photodiode 16 ist schräg zum Lichtstrahl montiert, um eine Rückreflexion zu verhindern. Die Umgebung der Photodiode 16 ist matt schwarz gehalten, da sonst die Empfindlichkeit reduziert wird. Die Optikblöcke A, B, C sind starr miteinander verbunden und können mit einem motorischen Antrieb ausselektiert werden.

Der Optikblock A (Fig. 4) wird für die Fluorometriemessung von unten verwendet. Er weist ebenso wie der Optikblock B einen Trägerblock aus schwarz eloxiertem Aluminium auf, der starr mit dem Trägerblock des Optikblockes B verbunden ist. Die Einkopelloptik S01 hat wiederum einen Abstand von 18 mm zu S02 bzw. vom oberen Meßkopf und dient zur Ein- und Auskopplung des Lichtleiters 19. Die Einkopplung erfolgt jeweils über eine Linse 22, 17, 20 (SQ1) zur Fokussierung des Strahls auf die Lichtleitereintrittsfläche. Der Abstand von 18 mm wurde deswegen gewählt, um einen einheitlichen Raster zu haben, da das Rastermaß für Mikroplatten mit 96 Kavitäten 9 mm beträgt und durch einheitliche Abstände ein besseres Timing für alle unterschiedlichen Meßmodis ermöglicht wird. Für viele Messungen ist der Zeitraster sehr wichtig, z.B. kann von oben gemessene Fluorometrie mit Injektion im selben Zeitraster (Injektion zu Messung) gefahren werden wie die von unten gemessene Fluorometrie. Der geometrische Versatz (18 mm) der beiden Optiken für die Messung von oben und von unten verhindert auch noch eine gegenseitige Beeinflussung der Optiken.

4

Die Aluminiumoberflächenspiegel 18, 21 dienen zur Ablenkung des Lichtstrahles um 90°, wodurch ein sehr platzsparender Aufbau erreicht wird, der benötigt wird, um in unmittelbarer Nähe Injektionspositionen zu haben, die für die zeitkritischen Meßmethoden notwendig sind.

5

Der Optikblock C (Fig. 6) wird für Photometrie, Glühlumineszenz und Blitzlumineszenz verwendet. Der Optikblock C weist ebenfalls einen Trägerblock aus schwarz eloxiertem Aluminium auf, der wiederum starr mit dem Trägerblock des Optikblockes B verbunden ist.

10

Die Einkoppelung des Lichtstrahls für die Photometrie erfolgt gleich wie im Optikblock A über die Linse 23 und den Spiegel 24 in den Lichtleiter 25.

Die Weiterleitung des Lichtstrahls von der Probe 11 erfolgt bei der Lumineszenzmessung und der Photometrie über einen Quarzlichtleitstab 28, um die Verluste für die Luminometrie so klein wie möglich zu halten.

Vom Ausgang des Quarzlichtleitstabes 28 gelangt der Lichtstrahl entweder direkt zum Detektor 15 oder über einen Filterschieber 13 zum Detektor 15. Der Filterschieber 13 ist für wellenlängenspezifische Lumineszenzmessungen oder Photometermessungen vorgesehen.

Die zweite Lichtquelle 29 (Fig. 5) besteht aus einer Xenonblitzlampe samt Ansteuerung, einem Flüssiglichtleiter 30, der unter anderem zur geometrischen Stabilisierung des Blitzes dient, einer Lichtleiteraufnahme 33 aus schwarz eloxiertem Aluminium und der von einer Linse 31 gebildeten Auskoppeloptik.

Die Lichtquellen 1, 29, d.h. die Halogenlampe und die Xenonblitzlampe, müssen je nach Meßmethode positioniert werden. Der Abstand der beiden Auskoppeloptiken von der Lichtquelle 1 zu der Lichtleiteraufnahme 33 beträgt 18 mm. Das Positionieren der Lichtquelle 1 und der Lichtleiteraufnahme 33 erfolgt mittels eines Schrittmotors.

Für die Trennung zwischen der Lichtquelle 1 und der Lichtleiteraufnahme 33 einerseits und den Filtern andererseits ist eine Führung aus schwarz eloxiertem Aluminium mit einer 9 mm (10 mm) Optiköffnung vorgesehen.

Im Filterschieber 6 können die EM-Filter (Emissionsfilter Fluorometrie) für TRF und FL, die Polarisationsfilter 5 und die Photometerfilter installiert werden. Der Filterschieber 6 ist leicht herausnehmbar und somit können die Filter auf einfache Art nachbestückt werden (Filtergrößen ca. 12,7 mm). Der Antrieb des Filterschiebers 6 erfolgt über einen Schrittmotor. Die Filter sind in einem Rastermaß von 18 mm angebracht.

Im Filterschieber 13 können die EM-Filter für TRF und FL, die Photometerfilter und die Lumineszenzfilter installiert werden. Der Filterschieber 13 ist ebenso wie der Filterschieber 6 leicht herausnehmbar, damit die Filter einfach nachbestückt werden können. Die Filtergröße beträgt wieder ca. 12,7 mm. Der Antrieb des Filterschiebers 13 erfolgt über einen Schrittmotor und die einzelnen Filter sind in einem Rastermaß von 18 mm angeordnet. Die Filterschieber 6, 13 sind mechanisch codiert, um eine Verwechslung zu verhindern.

Der Detektor 15 ist ein Hochgeschwindigkeits-Frontfenster-Photonenvervielfacher für Zählmodule (High Speed Front Window Counter) Photomultiplikator mit optionaler Peltier-Kühlung für höhere Empfindlichkeit auch im roten Spektralbereich. Die Kühlung reduziert das Wärmerauschen von rotempfindlichen Photomultiplikatoren. Als Empfangsschaltung wird ein Vorverstärkerzähler (Counter) mit ca. 500 MHz Bandbreite verwendet, der die Blitzlampe direkt mit dem Zähler synchronisieren kann. Optional kann auch ein Photonenvervielfacher, der das Prinzip des Kanalelektronenvervielfachers (KeV) nützt (Channel Photo Multiplier) zum Einsatz kommen.

Die Irisblende 10 ist motorisch stufenlos verstellbar (typisch 0,6 mm bis 7 mm). Somit können unterschiedliche Probengrößen gemessen werden, ohne daß ein Nachbar-kanaleinfluss erfolgt. Ebenso ist ein geometrisches Scannen der Proben möglich (Mustererkennung), da der Probenträgertransport eine Schrittauflösung von 0,1 mm im Vollschrift bzw. entsprechend kleiner im μ -Step-Betrieb sowohl in der X- als der Y-Richtung aufweist.

Die Probeneinkoppeloptik SO1 für von unten gemessene Fluoreszenz ist in einem Block aus mattiertem schwarzen eloxierten Aluminium angeordnet und nimmt den Fluorometerlichtleiter 19 auf. Die Probeneinkoppeloptik SO1 für von unten gemessene Fluoreszenz ist 18 mm von der Meßposition für von oben gemessene Fluores-

zenz entfernt, um eine gegenseitige Beeinflussung zu verhindern. Der Fluorometerlichtleiter 19 ist von der Linse 20 die zweifache Brennweite entfernt.

Der Fluorometerlichtleiter 19 hat zwei Optikarme, und zwar Emissionslichtleitfasern und Exitationslichtleitfasern. Die Emissionslichtleitfasern und die Exitationslichtleitfasern werden in einem statistischen Mischungsverhältnis von 1:1 gebündelt. Bei der Verarbeitung muß besonders auf maximale Transmission und Unversehrtheit der Lichtleitfasern geachtet werden, da es sonst zu einem erhöhten Durchgriff kommen könnte und dies die Empfindlichkeit des Meßsystemes negativ beeinflussen würde. Außerdem dürfen nur Materialien, die keine Eigenfluoreszenz haben, verwendet werden.

Der gesamte Optikaufbau, der sich über der Probe 11 befindet (d.h. die Optikblöcke A, B, C, die Lichtquellen 1 und 29, die Irisblende 10, der Defektor 15, die Polarisationsfilter 5 und die Filterschieber 6, 13), kann mittels eines motorischen Antriebes der jeweiligen Probenträgerhöhe angepaßt werden. Dies erhöht die Empfindlichkeit und verringert die gegenseitige Beeinflussung von benachbarten Proben. Dies ist besonders wichtig bei Glühlumineszenzen, da die Proben sehr lange nachleuchten können. Die Höhenanpassung ist zwischen ca. 10 mm und 25 mm Probenhöhe möglich.

Die Photometersekundäroptik SO2 (Fig. 6) umfaßt einen Lichtleiter 25, der die Aufgabe hat, das Licht unter die Probe 11 zu bringen. Die Optik muß einen sehr dünnen Strahl aufbereiten, um auch kleine Proben 11 messen zu können. Der Strahl geht durch den Lichtleiter 25, der in einem schwarzen Kunststoffrohr 26 mit Innengewinde angeordnet ist. Das Kunststoffrohr 26 verhindert lästige Randstrahlungen und wirkt wie eine Aneinanderreihung von vielen Blenden. Die Ausgangslinse 27 bereitet den Strahl derart auf, daß auch bei starker Meniskusbildung in der Probe 11 gute Meßergebnisse erzielt werden.

Das System kann mit bis zu vier Injektoren versehen sein (um die Reaktionen zu starten/zu stoppen usw.). Dabei ist zu beachten, daß sich diese Positionen in unmittelbarer Nähe der Meßpositionen befinden. Ein rascher Transport der Probe 11 von der Injektorposition zur Meßposition ist bei verschiedenen Meßverfahren unbedingt erforderlich. Injektorpositionen sind jeweils 18 mm von der Meßposition für das Messen von oben bzw. von der Meßposition für das Messen von unten entfernt. An jeder Position können

jeweils zwei Injektoren angebracht werden. Bei Geräten, die direkt in der Meßposition injizieren, ist die Meßoptik sehr verschmutzungsgefährdet.

- Für die Fluoreszenzpolarisationsmessung kann optional zwischen dem Filterschieber 13 und dem als Photomultiplikator ausgebildeten Detektor 15 oder zwischen dem Optikblock B und dem Filterschieber 13 ein Polarisationsfilter 14 (Fig. 5) eingebaut werden. Das Polarisationsfilter 14 kann motorisch gedreht werden, und somit kann die Polarisationsverschiebung in der Probe 11 gemessen werden.
- Das Polarisationsfilterrad 32 (Fig. 8) hat eine Position für Normalmessungen (9 mm Bohrung) und einen Bogen von 90° Strahlendurchmesser, wo ein Polarisationsfilter 14 eingesetzt wird, und durch die Drehung des Polarisationsfilterrades eine Polarisationsdrehung von 90° erfolgen kann.
- Angetrieben wird das Polarisationsfilterrad 32 über einen Schrittmotor. Damit ist leicht eine Rückrechnung der Polarisationsdrehung möglich. Im Filterschieber 6 müssen für die Messungen polarisierende Fluoreszenzfilter bzw. Polarisationsfilter und Interferenzfilter eingebaut werden.
- Es folgt eine Beschreibung der einzelnen Meßmethoden:

Von oben messende Fluorometrie (Fig. 3)

- Für diese Meßmethode werden die Lichtquelle 1, der Filterschieber 6, der Optikblock B, die Irisblende 10, der Filterschieber 13 und der als Photomultiplikator ausgebildete Detektor 15 verwendet.

- Für diese Meßmethode können die entsprechenden Energiewerte für die jeweilige Filterkombination über Referenzproben, die in der Probenträgerplatte integriert sind, eingestellt und überprüft werden (Anfang und Ende der Messung). Dadurch hält man eine bessere Reproduzierbarkeit und kann die Alterung oder den Drift der Lichtquelle 1 oder sonstiger optischer Bauteile wie der Filter oder des Detektors 15 kompensieren.

Zeitverzögernde Fluorometri (Fig. 5)

Für die Meßmethode werden die Lichtquelle 29, ein Flüssiglichtleiter 30, eine Lichtleiteraufnahme 33, ein Filterschieber 6, der Optikblock B, die Irisblende 10, der Filterschieber 13, eine Referenzdiode 16 und der als Photomultiplikator ausgebildete Detektor 15 verwendet.

Auch für diese Meßmethode können die entsprechenden Energiewerte für die jeweilige Filterkombination über Referenzproben, die in der Probenträgerplatte integriert sind, eingestellt und überprüft werden. Dadurch erhält man ebenso eine bessere Reproduzierbarkeit und kann die Alterung von der Xenonblitzlampe der Lichtquelle 29 oder sonstiger optischer Bauteile, wie Filter und Detektor 15 kompensieren. Die Zündzeitpunkte der Lichtquelle 29 (Blitzlampe) werden mit der Referenzphotodiode gemessen und über ein einstellbares Zeitverzögerungsglied synchronisiert dem als Photomultiplikator ausgebildeten Detektor 15 zugeleitet. Das Meßfenster und das Zeitverzögerungsfenster sind frei programmierbar.

Von unten messende Fluorometrie (Fig. 4)

Für diese Meßmethode werden die Lichtquelle 1, der Filterschieber 6, der Optikblock A, der Fluorometerlichtleiter 19, die Bottom-Reading Sekundäroptik SO1, der Filterschieber 13 und der Detektor 15 verwendet.

Bei dieser Meßmethode wird die Probe 11 von unten gemessen. Die entsprechenden Energiewerte für die jeweilige Filterkombination können über die Referenzproben, die in der Probenträgerplatte integriert sind, eingestellt und überprüft werden. Es handelt sich hier um dasselbe Verfahren, wie es bei der Fluorometriemessung von oben angewandt wird.

Photometrie (Fig. 6)

Für diese Meßmethode werden die Lichtquelle 1, der Filterschieber 6 oder 13, der Optikblock C, die Photometersekundäroptik SO2 mit dem Lichtleiter 25 und der Detektor 15 verwendet. Diese Messung ist ein sogenanntes Durchlichtverfahren, dh die Probe 11 wird mit einem Lichtstrahl von unten beleuchtet und von oben gemessen. Für

- dies Messung muß die Irisblende 10 offen sein, damit das gesamte Licht, das durch die Probe 11 geht, aufgefangen wird und keine Verfälschung der Meßergebnisse durch unterschiedliche Meniskusbildungen in den Proben 11 erfolgen kann. Am Anfang und Ende jeder Reihe (bzw. Spalte) werden Lampenenergiemessungen durchgeführt.
- 5 Dadurch kann per Software der Lampendrift zurückgerechnet und die Meßergebnisse verbessert werden. Weiters kann auf einen Referenzkanal verzichtet werden.

Luminometrie

- 10 Für diese Meßmethode werden der Optikblock C, die Irisblende 10, der als Photomultiplikator ausgebildete Detektor 15 und vorzugsweise der Filterschieber 13 verwendet.

- Bei dieser Messung wird die Probe 11 von oben gemessen. Da bei verschiedenen Methoden die Proben 11 sehr lange Licht abgeben, ist es sehr wichtig, das Übersprechen von anderen Proben zu unterbinden. Dies erfolgt einerseits durch die Höhenanpassung zur Probe 11 und andererseits durch Verstellen der variablen Irisblende 10.
- 15 Für spezielle Anwendungen können im Filterschieber 13 spezielle Lumineszenzfilter verwendet werden.

- 20 Polarisationsfluorometrie

Die Polarisationsfluorometrie kann nach zwei Methoden erfolgen.

Methode 1 (Fig. 3):

- 25 Für diese Meßmethode werden die Lichtquelle 1, der Filterschieber 6, der Optikblock B, die Irisblende 10, der Filterschieber 13, der Polarisationsfilter 5, der Polarisationsfilter 14 und der Detektor 15 verwendet. Auch bei dieser Meßmethode können die entsprechenden Energiewerte für die jeweilige Filterkombination über Referenzproben, die
- 30 in der Probenträgerplatte integriert sind, eingestellt und überprüft werden. Dadurch erhält man eine bessere Reproduzierbarkeit, und es kann die Alterung der Lampe der Lichtquelle 1 oder sonstiger optischer Bauteile, wie Filter oder Photomultiplikator 15 kompensiert werden.

10

Beim Einbau muß nicht auf die genaue Drehung bzw. Justierung der Polarisationsfilter 5, 14 geachtet werden. Durch die Drehbarkeit des Polarisationsfilters 14 kann der 0° Punkt (voller Durchlaß) bzw. der 90° Punkt (volle Sperrwirkung) der beiden Polarisationsfilter 5, 14 zueinander herausgefunden werden, und somit der
5 Abgleich der Polarisationsfilter automatisch über eine integrierte Referenzprobe in der Aufnahme der Meßproben (Plattenschlitten) im Gerät erfolgen.

Während der Messung kann die Polarisation der Empfangsseite **verändert** werden.

10 Methode 2:

Für diese Meßmethode werden die Lichtquelle 29, der Filterschieber 6, der Optikkblock B, die Irisblende 10, der Filterschieber 13, der Polarisationsfilter 5, der Polarisationsfilter 14 und der Detektor 15 verwendet.

15

Auch bei dieser Meßmethode können die entsprechenden Energiewerte für die jeweilige Filterkombination über Referenzproben, die in der Probenträgerplatte integriert sind, eingestellt und überprüft werden. Ebenso wie bei der vorhergehenden Methode kann während der Messung die Polarisation der Empfangsseite verändert werden.

20

Diese Methode hat den Vorteil, daß auch im UV-Bereich Polarisationsfluoreszenz gemessen werden kann. Jedoch ist die Messung langsamer, da kein Gleichlicht vorhanden ist. Die Lichtquelle 29 wird, wie bereits erwähnt, von einer Xenonblitzlampe mit maximal 1000 Hz gebildet.

25

Alle Fluoreszenzmethoden und eventuell auch Photometermethoden können auch mit der Lichtquelle 29, dh mit einem Blitzlicht durchgeführt werden, was tiefe UV-Messungen ermöglicht, jedoch die Meßgeschwindigkeit bzw. Meßgenauigkeit beeinflusst (photometrische DNA-Messungen bei zB 260/280 NM).

Patentansprüche:

1. Fluorometer mit mindestens einer Lichtquelle einer Meßstation mit einer Aufnahme für mindestens einen Probehälter, insbesondere für die Aufnahme von Mikroplatten und Polymerasekettenreaktionsröhrchen (PCR-Tubes), einen Meßkopf sowie einer Auswertestation mit einem Detektor, vorzugsweise einem Photomultiplikator (PMT) für die Auswertung der von einer Probe abgegebenen Emmisionssignale, dadurch gekennzeichnet, daß der Meßkopf von mindestens zwei, vorzugsweise drei modular zusammengesetzten Optikblöcken (A, B, C) gebildet wird, wobei mit jedem Optikblock (A, B, C) eine andere Meßmethode durchführbar ist und alle Optikblöcke (A, B, C) den gemeinsamen Detektor (15) bedienen.
2. Fluorometer nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens zwei Lichtquellen (1, 29) vorgesehen sind, mit denen die Optikblöcke (A, B, C) wahlweise aktivierbar sind.
3. Fluorometer nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, daß zwei Optikblöcke (B, C) mittels eines elektrischen Antriebes wahlweise vor einer Lichtquelle (1) positionierbar sind.
4. Fluorometer nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, daß jeder der Optikblöcke (A, B, C) mit einem Spiegel versehen ist, mit dem mindestens ein Teil der von einer Lichtquelle (1, 29) abgegebenen Strahlen um 90° umgelenkt wird.
5. Fluorometer nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, daß mindestens einer der Spiegel als Strahlenteiler (8, 18, 21, 24) ausgebildet ist.
6. Fluorometer nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen den Optikblöcken (A, B, C) und dem Detektor (15) ein Polarisationsfilter (14) angeordnet ist.
7. Fluorometer nach einem der Ansprüche 2 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß eine der Lichtquellen (1, 29) von einer Halogenlampe und die andere von einer Blitzlampe gebildet wird.

8. Fluorometer nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß zwei Optikblöcke mittels eines elektrischen Antriebes wahlweise vor der von einer Halogenlampe gebildeten Lichtquelle (1) positionierbar sind.
- 5
9. Fluorometer nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die von einer Halogenlampe gebildete Lichtquelle (1) auf einer Führung verschiebbar ist.
10. Fluorometer nach einem der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen den Optikblöcken (A, B, C) und der Aufnahme (11) für den Probehälter eine Irisblende (10) angeordnet ist.
- 10
11. Fluorometer nach mindestens einem der Ansprüche 1 bis 10, dadurch gekennzeichnet, daß zwischen den Lichtquellen (1, 29) und den Optikblöcken (A, B, C) ein Filterschieber (6) vorgesehen ist.
- 15
12. Fluorometer nach einem der Ansprüche 1 bis 11, dadurch gekennzeichnet, daß zwei Optikblöcke (A, B) für die Fluorometrie ausgerüstet sind und ein Optikblock (C) für die Photometrie.
- 20
13. Fluorometer nach einem der Ansprüche 1 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß jeder Optikblock (A, B, C) mit einer Einkoppeloptik für die Einkopplung eines von einer der Lichtquellen (1, 29) abgegebenen Lichtstrahles versehen ist.
- 25
14. Fluorometer nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, daß die Irisblende (10) motorisch stufenlos verstellbar ist.
15. Fluorometer nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, daß die Optikblöcke (A, B, C) gemeinsam in der Höhe motorisch versetzbar und an die jeweiligen Probeträgerhöhen anpaßbar sind.
- 30
16. Fluorometer nach einem der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß der Polarisationsfilter (14) als motorisch verdrehbares Polarisationsfilterrad ausgebildet ist.
- 35

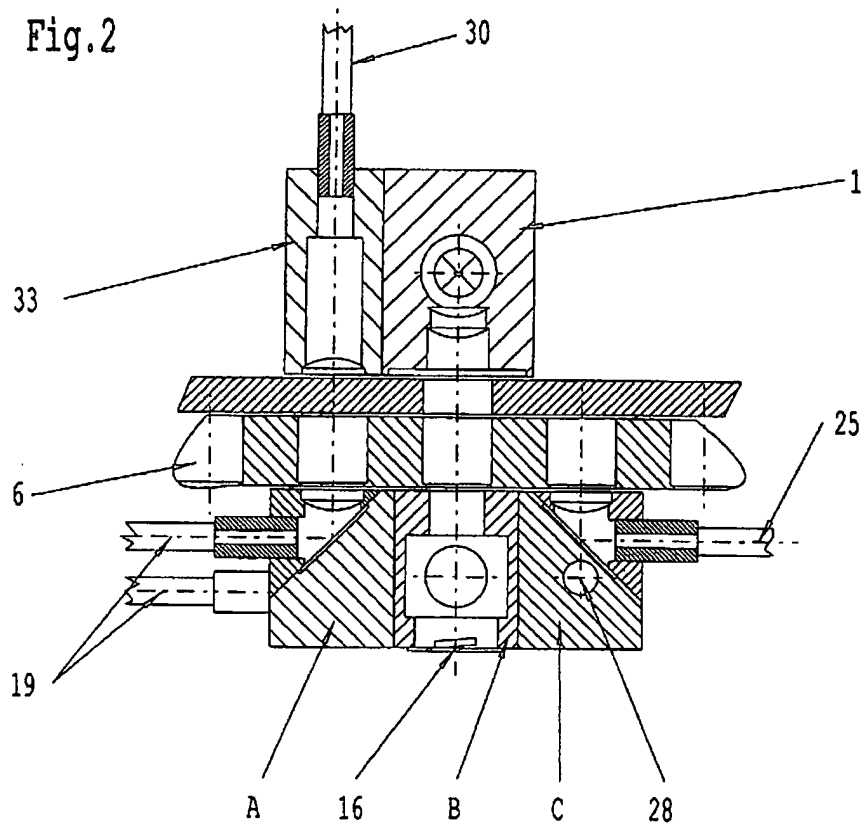
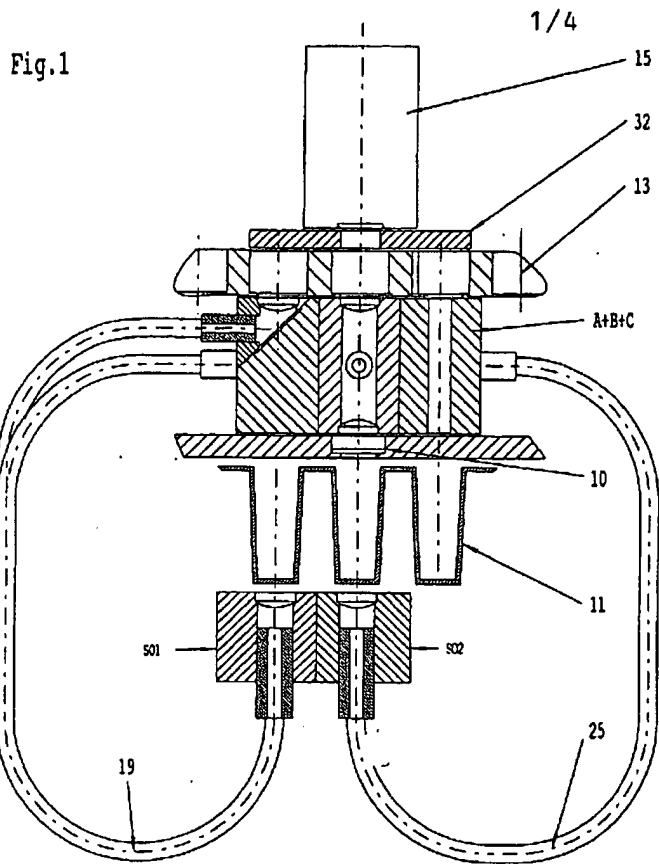


Fig.3

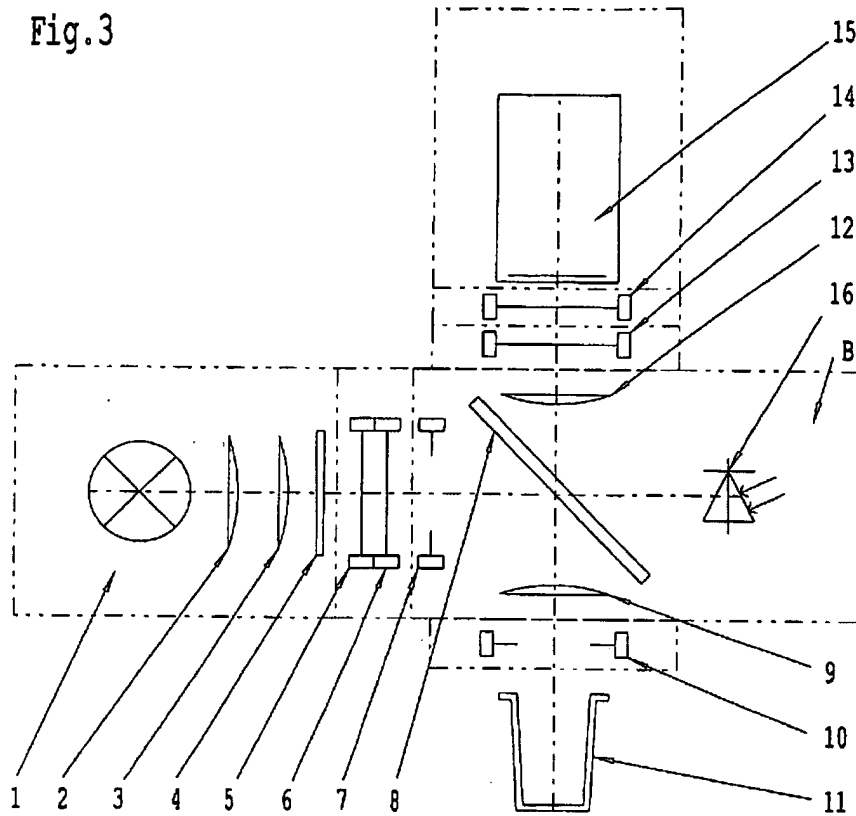


Fig.4

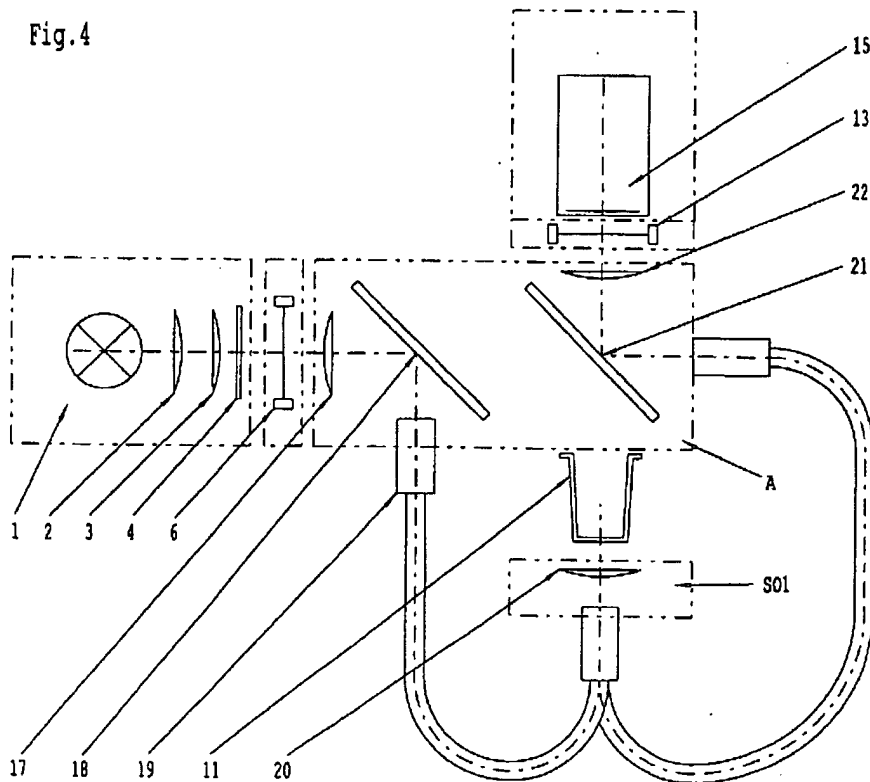


Fig.5

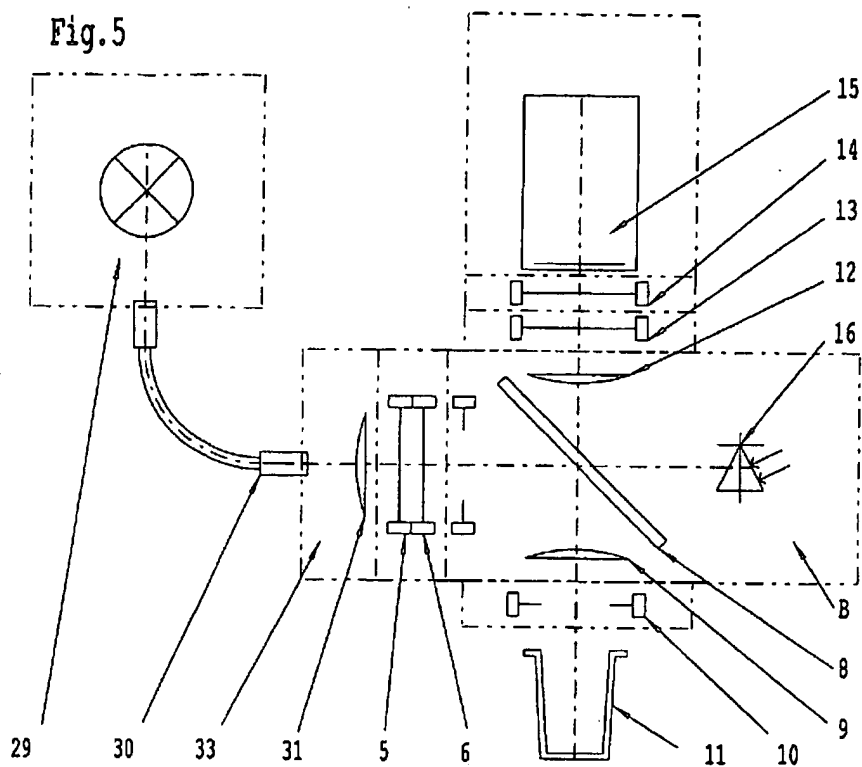


Fig.6

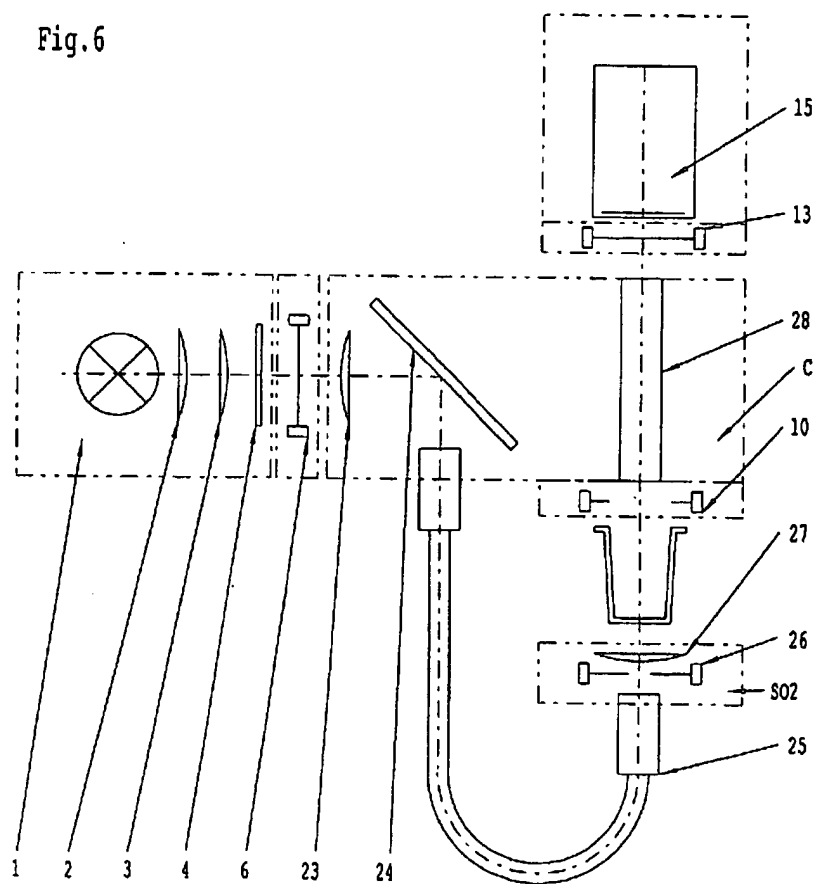


Fig.7

4/4

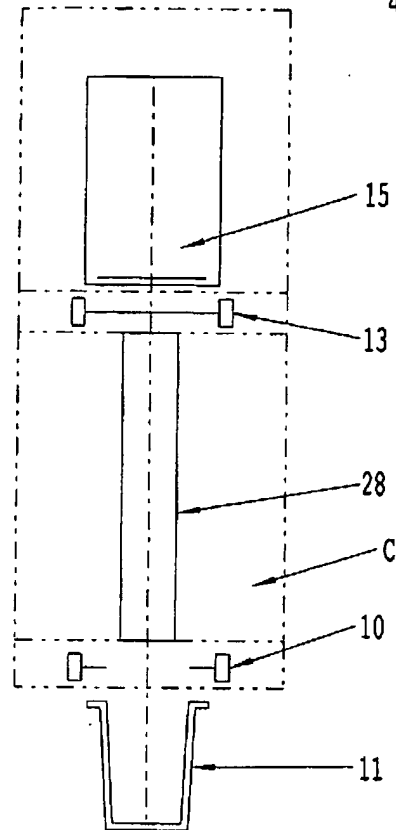
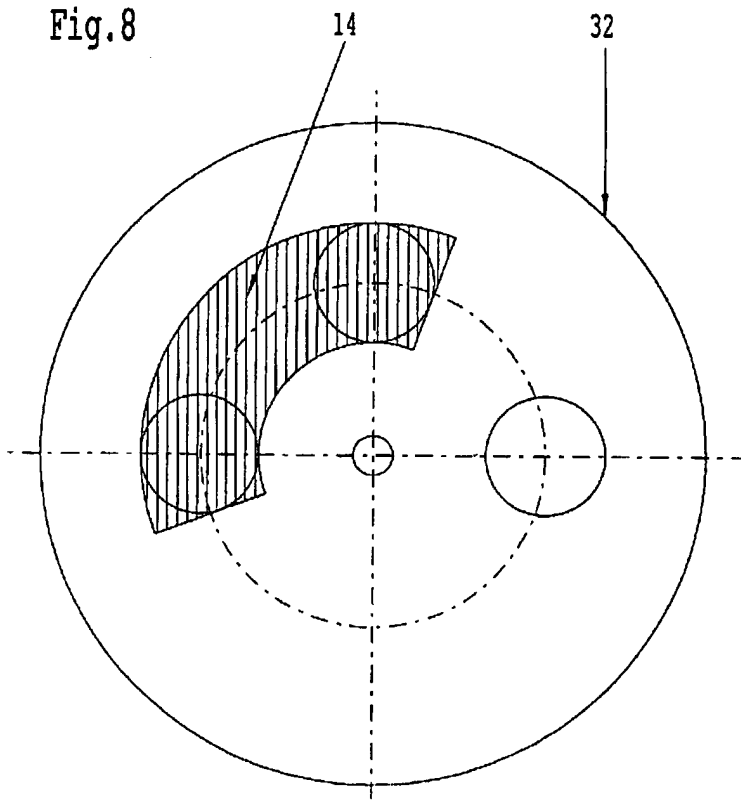


Fig.8



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No
PCT/AT 02/00157

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

IPC 7 GOIN21/01

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 7 GOIN

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the International search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, WPI Data, PAJ

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	US 6 084 680 A (PRIHA MATTI ET AL) 4 July 2000 (2000-07-04) cited in the application figure 2	1-16
A	EP 0 886 136 A (ORTHO CLINICAL DIAGNOSTICS INC) 23 December 1998 (1998-12-23) cited in the application figure 1	1-16
A	WO 01 35079 A (DU PONT ; LEE JERALD D (US); DABELL STANLEY D (US)) 17 May 2001 (2001-05-17) cited in the application figures 2-5	1-16
	-/-	

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

* Special categories of cited documents:

A document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

E earlier document but published on or after the international filing date

L document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

O document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

P document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

T later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

X document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

Y document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.

Z document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

19 September 2002

Date of mailing of the international search report

27/09/2002

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2
NL - 2280 HV Rijswijk
Tel: (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Naeslund, P

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Int. Application No
PCT/AT 02/00157

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	WO 82 00356 A (LABSYSTEMS OY) 4 February 1982 (1982-02-04) figures ---	1-16
A	US 5 565 360 A (MASTNY GARY F ET AL) 15 October 1996 (1996-10-15) the whole document -----	1-16

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/AT 02/00157

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 6084680	A	04-07-2000	EP 0858592 A1 WO 9711351 A1 JP 11511560 T	19-08-1998 27-03-1997 05-10-1999
EP 0886136	A	23-12-1998	AU 732763 B2 AU 7006798 A CA 2238578 A1 EP 0886136 A1 JP 11083743 A US 5894347 A	26-04-2001 17-12-1998 16-12-1998 23-12-1998 26-03-1999 13-04-1999
WO 0135079	A	17-05-2001	AU 1655901 A EP 1228357 A1 WO 0135079 A1	06-06-2001 07-08-2002 17-05-2001
WO 8200356	A	04-02-1982	EP 0056415 A1 WO 8200356 A1 JP 57501198 T	28-07-1982 04-02-1982 08-07-1982
US 5565360	A	15-10-1996	US 5840572 A	24-11-1998

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Int: inales Aktenzeichen

PCT/AT 02/00157

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	WO 82 00356 A (LABSYSTEMS OY) 4. Februar 1982 (1982-02-04) Abbildungen	1-16
A	US 5 565 360 A (MASTNY GARY F ET AL) 15. Oktober 1996 (1996-10-15) das ganze Dokument	1-16

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Ink. nationales Aktenzeichen
PCT/AT 02/00157

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument		Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
US 6084680	A	04-07-2000	EP 0858592 A1	19-08-1998
			WO 9711351 A1	27-03-1997
			JP 11511560 T	05-10-1999
EP 0886136	A	23-12-1998	AU 732763 B2	26-04-2001
			AU 7006798 A	17-12-1998
			CA 2238578 A1	16-12-1998
			EP 0886136 A1	23-12-1998
			JP 11083743 A	26-03-1999
			US 5894347 A	13-04-1999
WO 0135079	A	17-05-2001	AU 1655901 A	06-06-2001
			EP 1228357 A1	07-08-2002
			WO 0135079 A1	17-05-2001
WO 8200356	A	04-02-1982	EP 0056415 A1	28-07-1982
			WO 8200356 A1	04-02-1982
			JP 57501198 T	08-07-1982
US 5565360	A	15-10-1996	US 5840572 A	24-11-1998